

# The Effect of Cholecystectomy on the Induction of Colorectal Cancers in Guinea Pigs by N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/7794">http://hdl.handle.net/2297/7794</a>

## 大腸癌発生増殖に及ぼす胆嚢摘除術の 影響に関する実験的研究

金沢大学医学部外科学第二講座 (主任:宮崎逸夫教授)

小坂 健夫

(昭和60年4月26日受付)

胆嚢摘除術(胆摘)に伴う胆汁酸代謝の変化と大腸癌発生増殖の因果関係を究明する目的で、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG)誘発大腸癌における胆摘後の大腸腫瘍発生率ならびに発生個数の変化を検索するとともに、胆摘に伴う胆管胆汁ならびに糞便中胆汁酸組成の変化を検討した。実験動物はハートレー系雌性モルモットを用い、MNNGは0.025%水溶液2ml(0.5mg)を週2回、15週間(総量15mg)直腸内に注腸投与した。病理組織学的検索は実験開始40週後とし、屠殺剖検によって得られた遠位側大腸の連続切片を作製し検索した。また、胆汁ならびに糞便中の胆汁酸分析にはガスクロマトグラフィーを用いた。その結果、癌腫発生率は単開腹群の76%に対し胆摘群では56%と低下し、癌腫の深達度別発生率も前者のm癌56%、sm癌52%、pm癌8%、ss癌4%に対し後者ではm癌40%、sm癌28%を認めただけでpm癌、ss癌はみられず、胆摘群では大腸癌発生率の低下ならびに早期癌の多い傾向を示した。また、一匹あたりの癌腫個数は単開腹群の2.96個に対し胆摘群1.08個、うち深達度sm以上の癌腫個数は前者の0.92個に対し後者0.36個と胆摘群で有意の減少を示し( $p < 0.05$ )、腫瘍径も0.1cm以下の腫瘍が前者の29.7%に対し後者51.9%と胆摘群で腫瘍径の小さな腫瘍が有意に増加した( $p < 0.05$ )。胆管胆汁中胆汁酸組成比は、胆摘群ではコール酸およびデオキシコール酸の上昇に加え、ケノデオキシコール酸が減少し、一次胆汁酸/二次胆汁酸比が66.7から21.7へ減少する傾向を示した。糞便中胆汁酸については総胆汁酸排泄量が減少し、組成比では、デオキシコール酸およびリトコール酸の二次胆汁酸の減少から一次胆汁酸/二次胆汁酸比が0.60から1.39へ上昇する結果が得られた。以上より、MNNG誘発モルモット実験大腸癌では、胆摘は大腸癌発生増殖に抑制的に作用した。その要因として胆摘に伴う糞便中胆汁酸排泄量の減少および二次胆汁酸量の減少に起因するものと結論した。

**Key words** colorectal cancer, guinea pig, cholecystectomy, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, bile acid

本邦の大腸癌罹患率は欧米諸国に比べ低率であるものの<sup>1)~4)</sup>、近年漸増する傾向にあり、<sup>5)6)</sup>、その要因の究明が重要な課題となっている。疫学的研究によれば、食飼性因子、特に脂肪摂取量と大腸癌死亡率の間に正の相関関係が示され<sup>7)~9)</sup>、また実験的にも高脂肪食を与えることにより大腸癌の発生が促進されることが証明されている<sup>10)11)</sup>。この高脂肪食摂取に伴う大腸癌発生の促進は、高脂肪食摂取で惹起される胆汁酸代謝の

変動に起因するとされ、糞便中の胆汁酸排泄量ならびに胆汁酸組成比の変化、特に二次胆汁酸量の増加が大腸癌発生を促進することが明らかにされている。

ところで、胆嚢摘除術(胆摘)は胆嚢結石症に対する手術術式として広く用いられているが、胆摘後に胆嚢欠損から胆汁酸代謝が変動し、胆汁酸組成の変化が惹起される可能性は推察されるところである。かかる観点から Vernickら<sup>12)</sup>は大腸癌患者における胆摘の

Abbreviations: AOM, azoxymethane; CA, cholic acid; CDCA, chenodeoxycholic acid; DCA, deoxycholic acid; DMH, dimethylhydrazine; LCA, lithocholic acid; MAM, methylazoxymethanol acetate; MNNG, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; MNU, N-methyl-

既往歴の有無を検討し、右側大腸癌に胆摘の既往を有する例が多くみられたとし、Turunenら<sup>13)</sup>も胆摘後に大腸癌が増加したと報じた。またTurnbullら<sup>14)</sup>は女性で胆摘後大腸癌発生の相対危険度が高く、部位別では直腸癌に胆摘の既往が多かったと述べている。実験的にもWernerら<sup>15)</sup>は、ジメチルヒドラジン (dimethylhydrazine, DMH) を用いたマウス実験大腸癌における胆摘の影響の検討から、胆摘後に大腸癌の発生が増加したことを報告している。このように胆摘に伴い大腸癌発生率が增大する報告は多くみられるが、一方では実験大腸癌で追試したSchattenkerkら<sup>16)</sup>の如く胆摘後も差を認めなかったとする報告もみられ、胆摘と大腸癌発生の因果関係については未だ一定の見解をみるに至っていないのが現状である。

そこで、胆摘ならびに胆摘に伴う胆汁酸代謝の変化が大腸癌発生に及ぼす影響を究明するため、モルモットを用いたMNNG実験大腸癌を作製し検討した。現在実験大腸癌に用いられる化学発癌物質はソテツ実から単離されたサイカシン (cycasin) と同原型で化学的に合成されたDMHとその同族体アゾキシメタン (azoxymethane, AOM) およびメチルアゾキシメタノールアセテート (methylazoxymethanol acetate, MAM) と、alkylnitrosamide に属するMNNGおよびN-メチル-N-ニトロソウレア (N-methyl-N-nitrosourea, MNU) の二系統に分類される。DMH およびAOMは肝でMAMに代謝された後、胆汁あるいは血行性に大腸に到達し発癌作用を発揮するとされ<sup>17)</sup>、胆摘の大腸発癌への影響を検討するには必ずしも適切なモデルとは言えない。一方MNNGおよびMNUは直接的な接触作用によるもので、注入部位である遠位大腸に局限して腫瘍を発生することが知られ<sup>17)</sup>、胆摘の影響を知るにはより適切と思われる。

かかる理由から、著者は発癌物質としてMNNGを用い、モルモット実験大腸癌の発生率ならびに発生個数が胆摘によって如何に変化するかを検討した。また、得られた結果が胆摘後の如何なる胆汁酸代謝の変化に起因するかを検索するため、ガスクロマトグラフィーを用い胆摘モルモットの胆管内胆汁および糞便中胆汁酸組成の変化を分析した。

#### 材料および方法

実験動物はモルモット用飼料GM-3 (船橋農場製) および水道水で飼育された、6週齢、体重約300gのハートレー (Hartley) 系雌性モルモットを用いた。実験モデルの作製は12時間絶食後、ジエチルエーテル (diethylether) 麻酔下に約2cmの上腹部正中切開にて開腹し、胆嚢管を3-0絹糸で結紮切離後胆嚢を摘除した。実験群はこの胆摘群に対し、開腹操作のみを施行した単開腹群を対照群とした。術後管理は手術日よりモルモット用飼料GM-3および水道水を自由に摂取させ、抗生物質等の投与は行なわなかった。

発癌剤MNNGの投与方法はMNNG (和光純薬) を投与1時間前に遮光曇中で蒸留水に溶解、0.025%水溶液とし、2ml (0.5mg) を肛門縁より10cmまで挿入した八光カテーテル (7フレンチサイズ) を通し直腸内に注腸投与した。MNNG投与回数および期間は、術後8日目から開始し、週2回、15週間 (総量15mg/匹) 投与した。

#### I. 病理組織学的検索方法

MNNG投与開始後40週目に全例屠殺剖検し (図1)、摘出した大腸を肉眼的に観察した後、遠位側大腸を10%ホルマリン液にて固定した。病理標本は腸管の長軸方向に幅100 $\mu$ ごと6 $\mu$ の連続切片を作製し、HE

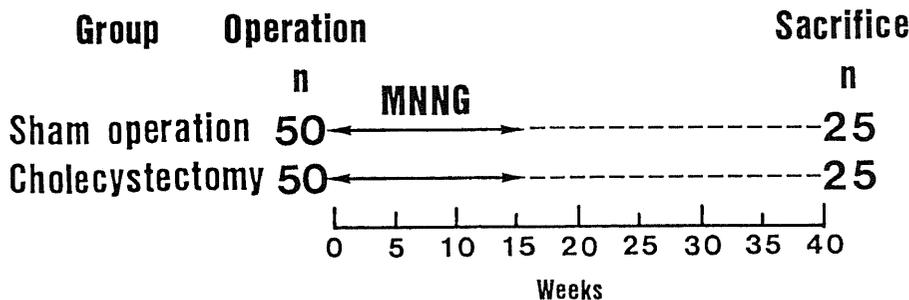


Fig. 1. Experimental design. Numbers (n) of animals at the onset and surviving at the end of the experiment are shown. The arrows show the period of instillation with MNNG. MNNG, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine.

染色後検索に供した。得られた腫瘍の組織学的判定は、大腸癌取扱い規約<sup>19)</sup>に準じ行った。すなわち、癌が粘膜内にとどまり、粘膜下層に及んでいないものを m 癌、癌が粘膜下層にとどまり、固有筋層に及んでいないものを sm 癌、癌が固有筋層にとどまり、これを越えていないものを pm 癌、癌が固有筋層を越えているが、漿膜表面に出ていないものを ss 癌とした。

## II. 糞便中胆汁酸分析方法

分析試料は、術後第 28 週時の 1 日量の糞便を採取し 24 時間凍結乾燥後、乳鉢中で粉末にしたものを用いた。

抽出方法は Grundy ら<sup>19)</sup>、滝田ら<sup>20)</sup>および佐々木<sup>21)</sup>の方法に準じ、分析装置は島津 GC-7A 型ガスクロマトグラフィーを使用した。カラムは 0.2% poly I-110/クロモソルブ W-HP 80~100 を充填したガラスカラムを用い、ヘリウムをキャリアーガスとし、流速 60 ml/min、カラム温度 220°C の条件で分析した。

各種胆汁酸の標準標品はガスクロ工業株式会社製のコール酸 (cholic acid, CA), デオキシコール酸 (deoxycholic acid, DCA), ケノデオキシコール酸 (chenodeoxycholic acid, CDCA), リトコール酸 (lithocholic acid, LCA), およびウルソデオキシコール酸 (ursodeoxycholic acid, UDCA) を用い、内部標準物質には同社のコラン酸 (cholanic acid) を用いた。

## III. 胆管胆汁中胆汁酸分析方法

胆管胆汁は第 40 週屠殺時採取した。各モルモットを

12 時間絶食後、ジエチルエーテル麻酔下に、腹部正中線上で開腹し、単開腹群では胆嚢摘除後、胆摘群では直ちに、総胆管内に外径 1.1 mm のポリエチレンチューブ (IGARASHI 社製) を逆行性に挿入し、自然流出のまま胆汁を採取し、直ちに凍結し測定まで保存した。

抽出方法は南部ら<sup>22)</sup>、岩淵<sup>23)</sup>の方法に準じ行い、分析装置、分析条件および標準物質は糞便中胆汁酸分析と同様に施行した。

## IV. 統計学的検定法

百分率の検定は  $\chi^2$  検定を用い、平均値の検定は Student の t 分布を用い行い、5% 未満の危険率をもって有意とした。

## 成 績

### I. 腫瘍発生率

MNNG 投与による腺腫発生率は単開腹群、胆摘群共に 100% であった。癌腫発生率は単開腹群の 25 匹中 19 匹 (76%) に対し胆摘群では 25 匹中 14 匹 (56%) を示し、癌腫の深達度別では単開腹群の m 癌 14 匹 (56%), sm 癌 13 匹 (52%), pm 癌 2 匹 (8%), ss 癌 1 匹 (4%) に対し、胆摘群では m 癌 10 匹 (40%), ss 癌 7 匹 (28%) を認めただけで pm, ss 癌はみられなかった。癌腫の発生率は両群間に有意差はないが胆摘群で減少する傾向を示した。また深達度別発生率では、単開腹群では深達度 pm 以上の進行した癌が 8% に発生したのに対し、胆摘群では進行癌の発生は

Table 1. Colonic tumor incidence in sham operated and cholecystectomized guinea pigs instilled with MNNG

Group	No. of animals	No. of animals with neoplasms (%)	No. of animals with adenomas (%)	No. of animals with carcinomas (%)
Sham operation	25	25 (100)	25 (100)	19 (76)
Cholecystectomy	25	25 (100)	25 (100)	14 (56)

Table 2. Incidence of carcinomas by histological depth of invasion

Group	No. of animals	Incidence of carcinomas by histological depth of invasion (%)			
		m	sm	pm	ss
Sham operation	25	14 (56)	13 (52)	2 (8)	1 (4)
Cholecystectomy	25	10 (40)	7 (28)	0	0

Abbreviations of histological depth of invasion are as follows: m, mucosal layer; sm, submucosal layer; pm, proper muscular layer; ss, subserosal layer.

みられずすべて sm までの早期癌で、胆摘群が単開腹群に比べ早期癌の多い傾向を示した (表 1, 2).

## II. 腫瘍個数

一匹あたりの発生腫瘍個数は単開腹群 29.5 個に対し胆摘群 14.8 個で、うち腺腫個数は前者の 26.5 個に対し後者 13.8 個、癌腫個数は 3.0 個に対し 1.1 個といずれも胆摘群で発生個数が有意に ( $p < 0.05$ ) 減少した (表 3). 癌腫の深達度別の発生個数も、単開腹群の m 癌 2.0 個, sm 癌 0.8 個, pm 癌 0.1 個, ss 癌 0.04 個に対し、胆摘群では m 癌 0.7 個, sm 癌 0.4 個で, pm, ss 癌はともに認められなかった。このようにいずれの深達度でも胆摘群では単開腹群に比べ発生個数が減少する傾向を示した ( $p < 0.1$ ) (表 4).

## III. 腫瘍占居部位ならびに分布状況

屠殺剖検により摘出された大腸の平均長は、単開腹群の結腸直腸 92.2 cm, 盲腸 10.0 cm に対し、胆摘群では結腸直腸 90.7 cm, 盲腸 9.7 cm で有意差はなかった。

腫瘍占居部位は、単開腹群では肛門縁から 0.00~21.78 cm (平均 9.84 cm) に、胆摘群では 0.00~23.14 cm (平均 10.88 cm) に分布した。腺腫は単開腹群の 0.00~21.78 cm (平均 9.89 cm) に対し、胆摘群の 0.00~23.14 cm (平均 10.90 cm) で、癌腫は単開腹群の 0.36~16.79 cm (平均 9.43 cm) に対し、胆摘群の 0.40~18.92 cm (平均 10.71 cm) とすべてほぼ均等な分布を示した (図 2, 3).

## IV. 腫瘍形態

### 1. 形態分類

顕微鏡観察下で腫瘍の形態を以下の 4 型に分類した (図 4, 5, 6, 7). すなわち 1) 陥凹型 (depressed type), 2) 平坦型 (flat type), 3) 隆起型 (elevated type), 4) 隆起+陥凹型 (elevated type with depression) である。癌腫の形態は、単開腹群の陥凹型 8 個 (10.8%), 平坦型 15 個 (20.3%), 隆起型 47 個 (63.5%), 隆起+陥凹型 4 個 (5.4%) に対し、胆摘群では陥凹型 7 個 (25.9%), 平坦型 9 個 (33.3%), 隆起型 10 個 (37.0%), 隆起+陥凹型 1 個 (3.7%) と、胆摘群で隆起型が有意に ( $p < 0.025$ ) 減少した (表 5). また腺腫の形態は、単開腹群の陥凹型 13 個 (2.0%), 平坦型 533 個 (80.4%), 隆起型 116 個 (17.5%), 隆起+陥凹型 1 個 (0.2%) に対し、胆摘群の陥凹型 10 個 (2.9%), 平坦型 262 個 (76.2%), 隆起型 72 個 (20.9%), 隆起+陥凹型 0 個を示し、両群間に有意差は認められなかった (表 6).

### 2. 腫瘍径

腫瘍の最大径について顕微鏡下に検討すると、癌腫では、単開腹群で 1 mm 以下 22 個 (29.7%), 1~2 mm 38 個 (51.4%), 2 mm を越えるもの 14 個 (18.9%) (平均 0.15 cm) を示したのに対し、胆摘群では 1 mm 以下 14 個 (51.9%), 1~2 mm 9 個 (33.3%), 2 mm を越えるもの 4 個 (14.8%) (平均 0.12 cm) を示し、胆摘群で最大径の小さな癌腫の占める比率が単開腹群に比べ有意に ( $p < 0.05$ ) 高かった (表 7). また腺腫では、単開腹群の 1 mm 以下 586 個 (88.4%), 1~2 mm 69 個 (10.4%), 2 mm を越えるもの 8 個 (1.2%) に対し、胆摘群の 1 mm 以下 305

Table 3. Number of tumors in sham operated and cholecystectomized guinea pigs instilled with MNNG

Group	No. of animals	No. of neoplasms (per animal)	No. of adenomas (per animal)	No. of carcinomas (per animal)
Sham operation	25	737 (29.48 ± 32.10)	663 (26.52 ± 28.41)	74 (2.96 ± 4.11)
Cholecystectomy	25	371 (14.84 ± 12.74)*	344 (13.76 ± 12.14)*	27 (1.08 ± 1.44)*

The figures in parentheses are expressed as mean ± SD. Significant difference between the two groups. \*  $p < 0.05$ .

Table 4. Number of carcinomas by histological depth of invasion

Group	No. of animals	No. of carcinomas by histological depth of invasion (per animal)				
		m	sm	pm	ss	sm + pm + ss
Sham operation	25	51 (2.04 ± 3.47)	20 (0.80 ± 0.91)	2 (0.08 ± 0.28)	1 (0.04 ± 0.20)	23 (0.92 ± 1.12)
Cholecystectomy	25	18 (0.72 ± 1.21)	9 (0.36 ± 0.64)	0	0	9 (0.36 ± 0.64)*

The figures in parentheses are expressed as mean ± SD. Abbreviations are shown in footnote to Table 2. Significant difference between the two groups, \*  $p < 0.05$ .

個 (88.7%), 1~2 mm 37個 (10.8%), 2 mm を越えるもの 2 個 (0.6%) で, 両群間に差は認めなかった (表 8).

V. 癌腫の組織学的分類

1. 組織型

癌腫の組織型は, 単開腹群では高分化腺癌 53 個 (71.6%), 中分化腺癌 14 個 (18.9%), 低分化腺癌 2 個 (2.7%), 印環細胞癌 4 個 (5.4%), 粘液癌 1 個 (1.4%) を示したのに対し, 胆摘群では高分化腺癌 22 個 (81.5%), 中分化腺癌 3 個 (11.1%), 低分化腺癌

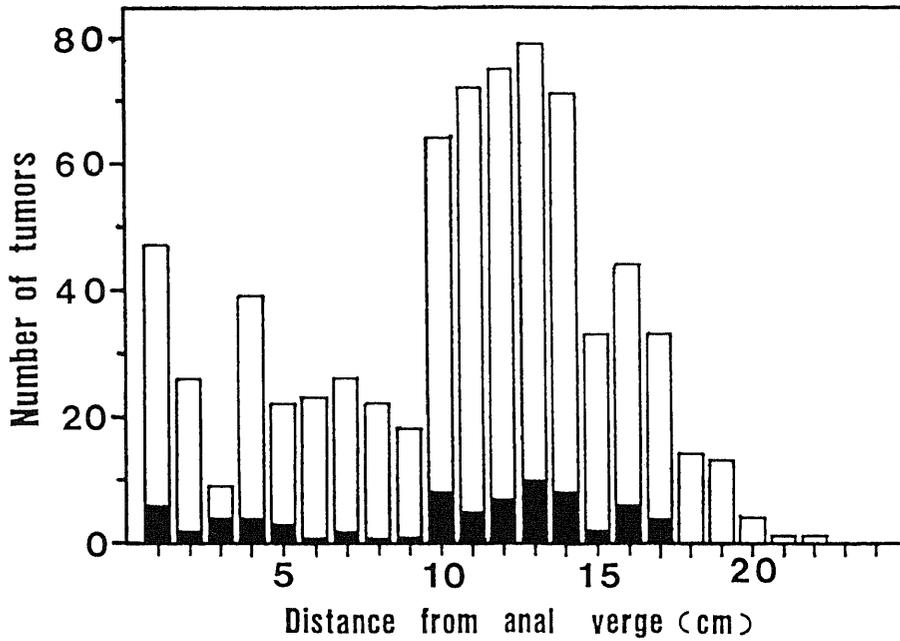


Fig. 2. Distribution of tumors in sham operated guinea pigs instilled with MNNG. , adenoma; , carcinoma.

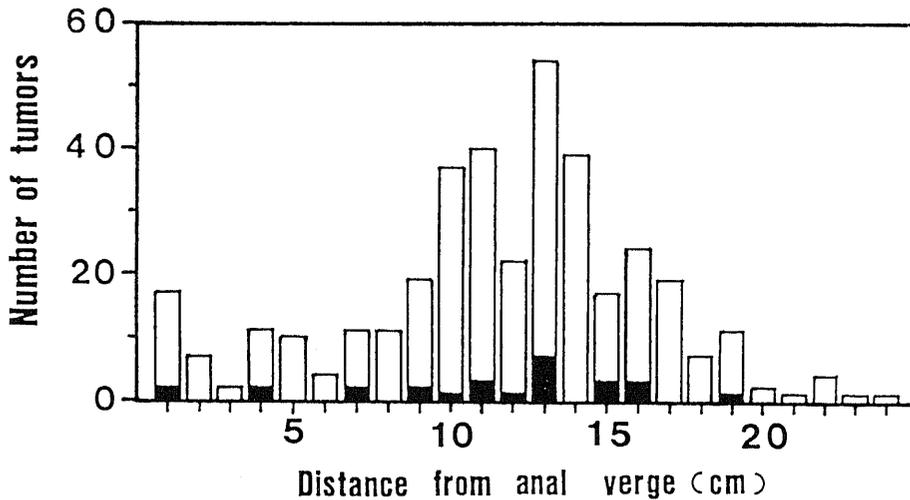


Fig. 3. Distribution of tumors in cholecystectomized guinea pigs instilled with MNNG. , adenoma; , carcinoma.

2個(7.4%)を示し、両群に差を認めなかった。また、癌腫の組織型の頻度は、高分化腺癌が大部分を占め、ヒト大腸癌に酷似していた(表9)。

## 2. 深達度

得られた101個の癌腫の深達度の分布は、m癌69個(68%)、sm癌29個(29%)、pm癌2個(2%)、ss癌1個(1%)を示し、単開腹群と胆摘群を比較した場合、各深達度の占める比率に差は認められなかつ

た。

組織型と深達度の関係については、高分化腺癌74個のうち、55個がm癌、19個がsm癌であり、pmに浸潤した癌はなかった。一方、中分化腺癌18個のうち1個にpm癌を、また印環細胞癌4個のうち1個にpm癌、1個にss癌を認めた。低分化腺癌、印環細胞癌および粘液癌は合計9個と数は少ないが、m癌3個、sm癌4個、pm癌1個、ss癌1個と深達度が深い傾向を

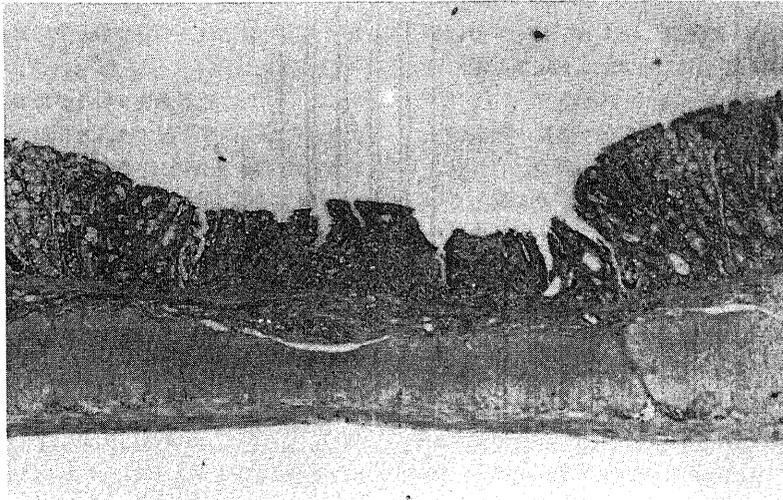


Fig. 4. Depressed type of tumors. Histological appearance shows moderately differentiated adenocarcinoma, invading into the submucosal layer. (HE stain,  $\times 40$ )

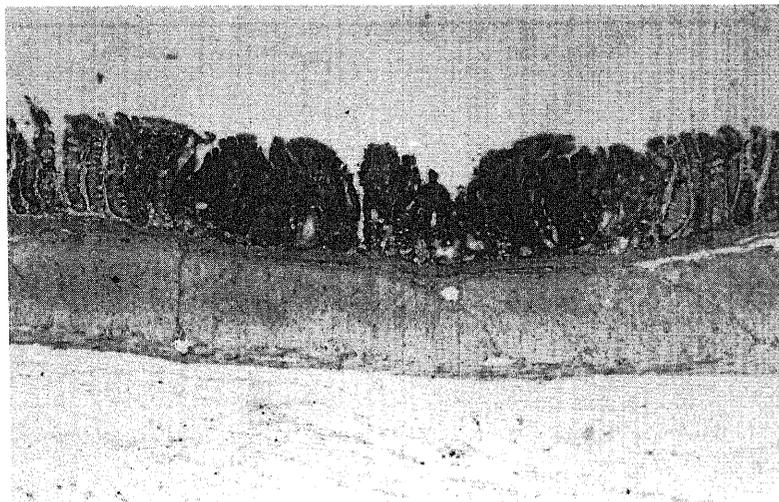


Fig. 5. Flat type of tumors. Histological appearance shows tubular adenoma. (HE stain,  $\times 40$ )

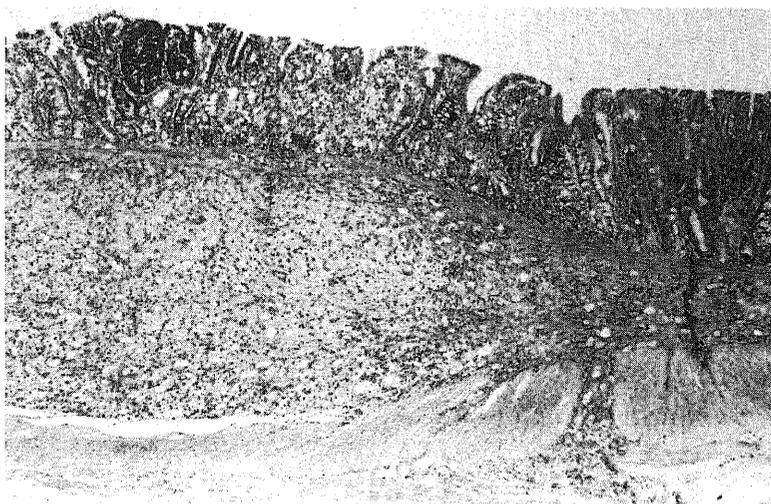


Fig. 6. Elevated type of tumors. Histological appearance shows signet-ring cell carcinoma, invading into the subserosal layer. (HE stain,  $\times 40$ )

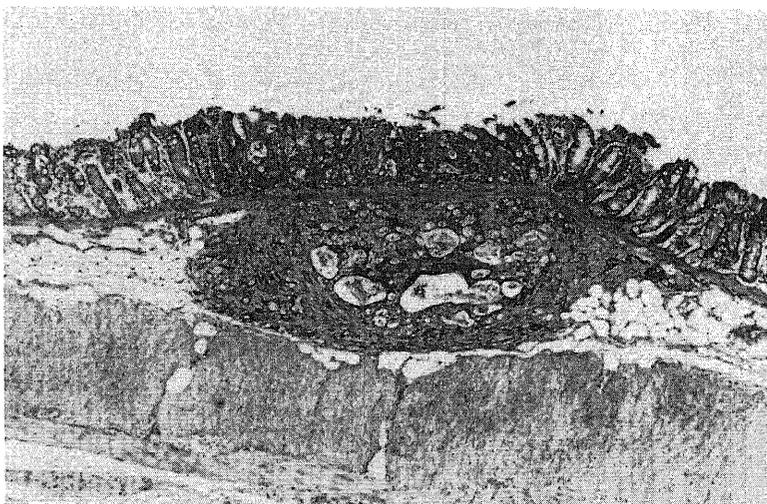


Fig. 7. Elevated type with depression of tumors. Histological appearance shows mucinous carcinoma, invading into the submucosal layer. (HE stain,  $\times 40$ )

Table 5. Morphological types of colonic carcinomas in sham operated and cholecystectomized guinea pigs instilled with MNNG

Group	No. of carcinomas	No. (%) of carcinomas showing type of			
		1) 	2) 	3) 	4) 
Sham operation	74	8 (10.8)	15 (20.3)	47 (63.5)	4 (5.4)
Cholecystectomy	27	7 (25.9)	9 (33.3)	10 (37.0)*	1 (3.7)

Morphological classification is as follows: 1), depressed type; 2), flat type; 3), elevated type; 4), elevated type with depression.

Significant difference between the two groups \*  $p < 0.025$ .

示した (表 10).

#### VI. 糞便中胆汁酸分析

糞便の乾燥重量は単開腹群の  $6.76 \pm 3.21$  g に対し胆摘群  $6.68 \pm 2.59$  g で差を認めなかった。

糞便中胆汁酸排泄量は、体重 (kg) あたり単開腹群では CA  $150.4 \pm 321.6$   $\mu$ M/日, DCA  $22.7 \pm 81.6$   $\mu$ M/日, CDCA  $48.4 \pm 35.4$   $\mu$ M/日, LCA  $365.9 \pm 320.6$

$\mu$ M/日, UDCA  $0.1 \pm 0.4$   $\mu$ M/日 の計  $587.5 \pm 471.7$   $\mu$ M/日に対し、胆摘群では CA  $145.8 \pm 329.4$   $\mu$ M/日, DCA  $4.2 \pm 11.0$   $\mu$ M/日, CDCA  $64.1 \pm 41.8$   $\mu$ M/日, LCA  $277.0 \pm 214.1$   $\mu$ M/日, UDCA  $1.1 \pm 2.8$   $\mu$ M/日 の計  $492.1 \pm 348.7$   $\mu$ M/日で、胆摘群で総胆汁酸排泄量の減少に加え、DCA および LCA が減少する傾向を示した。一次胆汁酸/二次胆汁酸比は単開腹群 0.60 に

Table 6. Morphological types of colonic adenomas in sham operated and cholecystectomized guinea pigs instilled with MNNG

Group	No. of adenomas	No. (%) of adenomas showing type of			
		1) 	2) 	3) 	4) 
Sham operation	663	13 (2.0)	533 (80.4)	116 (17.5)	1 (0.2)
Cholecystectomy	344	10 (2.9)	262 (76.2)	72 (20.9)	0

Morphological classification is shown in footnote to Table 5.

Table 7. Sizes of colonic carcinomas in sham operated and cholecystectomized guinea pigs instilled with MNNG

Group	No. of carcinomas	No. (%) of carcinomas showing size (mm) of		
		$\leq 1$	1-2	2 <
Sham operation	74	22 (29.7)	38 (51.4)	14 (18.9)
Cholecystectomy	27	14 (51.9)*	9 (33.3)	4 (14.8)

Significant difference between the two groups, \*  $p < 0.05$ .

Table 8. Sizes of colonic adenomas in sham operated and cholecystectomized guinea pigs instilled with MNNG

Group	No. of adenomas	No. (%) of adenomas showing size (mm) of		
		$\leq 1$	1-2	2 <
Sham operation	663	586 (88.4)	69 (10.4)	8 (1.2)
Cholecystectomy	344	305 (88.7)	37 (10.8)	2 (0.6)

Table 9. Histological types of colonic carcinomas in sham operated and cholecystectomized guinea pigs instilled with MNNG

Group	No. of animals	No. of carcinomas	No. (%) of carcinomas showing histological type of				
			Well	Mod.	Por.	Sig.	Muc.
Sham operation	25	74	53 (71.6)	14 (18.9)	2 (2.7)	4 (5.4)	1 (1.4)
Cholecystectomy	25	27	22 (81.5)	3 (11.1)	2 (7.4)	0	0

Abbreviations of histological types of carcinomas are as follows: Well, well differentiated adenocarcinoma; Mod., moderately differentiated adenocarcinoma; Por., poorly differentiated adenocarcinoma; Sig., signet-ring cell carcinoma; Muc., mucinous carcinoma.

対し胆摘群では 1.39 と胆摘群で上昇する傾向を示し ( $p < 0.1$ ), CDCA/LCA 比は胆摘群で有意に低下した ( $p < 0.01$ ) (表 11, 図 8, 9).

VII. 胆管胆汁中胆汁酸分析

術後 40 週の胆管胆汁中胆汁酸濃度および組成比は, 単開腹群の CA  $8.8 \pm 17.6 \mu\text{M/ml}$  ( $9.6 \pm 15.8\%$ ), DCA  $1.0 \pm 3.6 \mu\text{M/ml}$  ( $1.2 \pm 3.2\%$ ), CDCA  $44.3 \pm$

$23.7 \mu\text{M/ml}$  ( $81.1 \pm 20.2\%$ ), LCA  $0$ , UDCA  $6.1 \pm 9.2 \mu\text{M/ml}$  ( $8.0 \pm 10.1\%$ ) に対し, 胆摘群では CA  $24.7 \pm 39.2 \mu\text{M/ml}$  ( $21.7 \pm 22.4\%$ ), DCA  $3.8 \pm 7.6 \mu\text{M/ml}$  ( $3.8 \pm 6.7\%$ ), CDCA  $40.5 \pm 30.6 \mu\text{M/ml}$  ( $67.4 \pm 23.4\%$ ), LCA  $0$ , UDCA  $3.6 \pm 4.3 \mu\text{M/ml}$  ( $7.0 \pm 9.0\%$ ) で, 胆摘群で CA および DCA 組成比が上昇し, CDCA 組成比が減少した (CA, CDCA では  $p < 0.05$ ,

Table 10. Number of colonic carcinomas in relation to histological type classification and depth of invasion in guinea pigs instilled with MNNG

Histological type	Number of colonic carcinomas by depth of invasion				
	m	sm	pm	ss	total
Well	55	19	—	—	74
Mod.	11	6	1	—	18
Por.	2	2	—	—	4
Sig.	1	1	1	1	4
Muc.	—	1	—	—	1
Total (%)	69 (68)	29 (29)	2 (2)	1 (1)	101

Abbreviations of histological types and depth of invasion of carcinomas are shown in footnotes to Table 2 and 9.

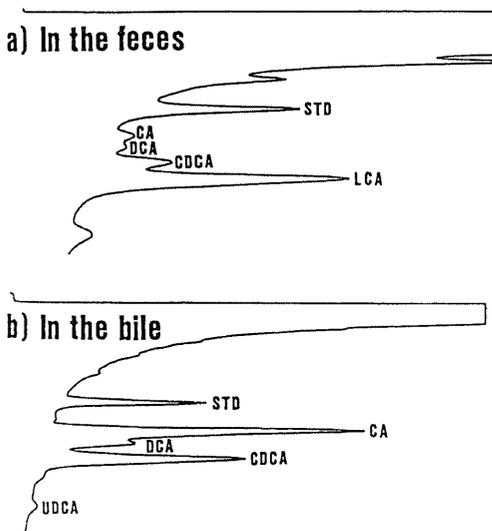


Fig. 8. Gas chromatogram of bile acids in the feces (a) and in the bile (b). Abbreviations of the bile acids are shown in footnote to Table 11 and the other is as follows: STD, standard (cholanic acid).

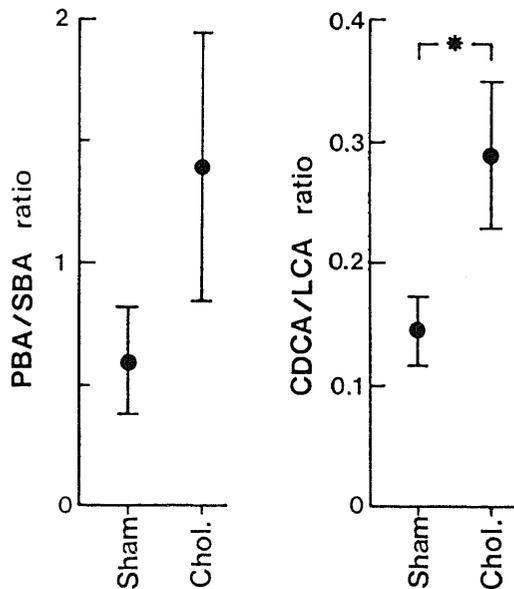


Fig. 9. The ratio of PBA to SBA and of CDCA to LCA of the fecal bile acids in the two groups. The values represent mean  $\pm$  SEM of the ratios. Abbreviations of the bile acids are shown in footnote to Table 11 and the others are as follows: Sham, the sham operation group; Chol., the cholecystectomy group. Significant difference between the two groups, \* $p < 0.01$ .

DCA では  $p < 0.1$ ), さらに一次胆汁酸/二次胆汁酸比は単開腹群 66.7 に対し胆摘群 21.7 と胆摘群で減少する傾向を示した ( $p < 0.1$ ) (表 12, 図 8).

### 考 察

近年本邦の大腸癌発生率は漸増する傾向にあり<sup>6)6)</sup>

その要因として食生活の欧米化に伴う脂肪摂取量の増大が挙げられている。すなわち、疫学的研究から脂肪摂取量と大腸癌死亡率が正の相関関係にあることが指摘されている<sup>7)~9)</sup>。実験的にも Reddy ら<sup>10)</sup>は MNNG 誘発ラット大腸癌において、15%の脂肪添加により腫瘍発生率ならびに発生個数がともに有意に増加したことを報告し、また Nigro ら<sup>11)</sup>も AOM を用い

たラット大腸癌で、35%牛脂肪添加飼料投与群の腫瘍発生個数  $4.55 \pm 0.46$  個に対し標準飼料投与群では  $3.10 \pm 0.58$  個と高脂肪飼料投与によって腫瘍発生個数が有意に増加したことを報じている。このような脂肪摂取量と大腸癌発生率との密接な関連性から、大腸癌と胆汁酸との因果関係が注目されている。すなわち、Cummings ら<sup>24)</sup>は高脂肪食の摂取により胆汁酸生成が促進され、便中の胆汁酸排泄量が有意に増加することを示している。

このような高脂肪食に伴う胆汁酸代謝の変化に着目し、Hill ら<sup>25)26)</sup>は日本を含むアジア、アフリカ、欧米諸国での糞便中胆汁酸の測定から、糞便中胆汁酸排泄量と大腸癌発生率との間に正の相関を認め、糞便中胆汁

Table 11. Fecal bile acid excretion of sham operated and cholecystectomized guinea pigs

Bile acid	Fecal bile acid, $\mu\text{M}/\text{day}/\text{kg}$ body weight	
	Sham operation (n=19)	Cholecystectomy (n=17)
CA	$150.4 \pm 321.6$	$145.8 \pm 329.4$
CDCA	$48.4 \pm 35.4$	$64.1 \pm 41.8$
UDCA	$0.1 \pm 0.4$	$1.1 \pm 2.8$
PBA	$198.8 \pm 315.6$	$199.3 \pm 272.2$
DCA	$22.7 \pm 81.6$	$4.2 \pm 11.0$
LCA	$365.9 \pm 320.6$	$277.0 \pm 214.1$
SBA	$388.6 \pm 323.4$	$281.0 \pm 210.3$
TBA	$587.5 \pm 471.7$	$492.1 \pm 348.7$

The figures are expressed as mean  $\pm$  SD. Abbreviations of bile acids are as follows: CA, cholic acid; CDCA, chenodeoxycholic acid; UDCA, ursodeoxycholic acid; PBA, primary bile acids; DCA, deoxycholic acids; LCA, lithocholic acid; SBA, secondary bile acids; TBA, total bile acids; n, number of animals studied.

Table 12. Biliary bile acid composition of sham operated and cholecystectomized guinea pigs

Bile acid	Biliary bile acid, $\mu\text{M}/\text{ml}$ (%)	
	Sham operation (n=20)	Cholecystectomy (n=21)
CA	$8.8 \pm 17.6$ ( $9.6 \pm 15.8$ )	$24.7 \pm 39.2$ ( $21.7 \pm 22.4$ )*
DCA	$1.0 \pm 3.6$ ( $1.2 \pm 3.2$ )	$3.8 \pm 7.6$ ( $3.8 \pm 6.7$ )
CDCA	$44.3 \pm 23.7$ ( $81.1 \pm 20.2$ )	$40.5 \pm 30.6$ ( $67.4 \pm 23.4$ )*
LCA	0.0	0.0
UDCA	$6.1 \pm 9.2$ ( $8.0 \pm 10.1$ )	$3.6 \pm 4.3$ ( $7.0 \pm 9.0$ )
TBA	$60.2 \pm 41.0$	$72.6 \pm 64.3$
PBA/SBA	66.7	21.7

The figures are expressed as mean  $\pm$  SD. Abbreviations of bile acids are shown in footnote to Table 11. Significant difference between the two groups, \*  $p < 0.05$

酸量の増加が大腸癌発生に促進的に関与すると推察している。さらに Reddy ら<sup>27,28)</sup>は、日本人、中国人およびアメリカ人での便中胆汁酸分析を行った結果、脂肪摂取量の多いアメリカ人では日本人や中国人に比べ CA が 1.6~2.8 倍、DCA が 2.7~4.8 倍、LCA が 3.6~4.1 倍、さらに総胆汁酸排泄量では 3.1~4.7 倍に達したとし、アメリカ人で大腸癌罹患率の高い事実とあわせて、便中胆汁酸排泄量の増加ならびに胆汁酸組成の変化が大腸癌と密接に関連していると述べている。

また、Sauer ら<sup>29)</sup>は発癌物質 DMH を用いたラット大腸癌で、0.33%の CDCA 添加飼料で大腸癌発生率が有意に高率を示したと報告した。さらに Cohen ら<sup>30)</sup>は MNU を用いたラット大腸癌において、0.2%の CA 添加群では普通食群に比べ一匹あたりの腫瘍発生個数が増加し、同時に測定した便中胆汁酸分析から二次胆汁酸である DCA が著増する結果を得、DCA が大腸癌発癌促進因子として重要であることを示した。

また、Narisawa ら<sup>31)</sup>、Reddy ら<sup>32)~35)</sup>は MNNG 注腸投与によるラット大腸癌において MNNG 単独投与群に比し、胆汁酸 CA, CDCA, DCA, LCA の追加投与群ではすべて大腸腫瘍発生率の明らかな増加を示し、一次および二次胆汁酸のいずれにも大腸癌促進作用があることを指摘した。一方、片山<sup>36)</sup>は、MNNG 誘発大腸癌において人工肛門造設に伴う便流遮断によって腫瘍発生が有意に減少したが、MNNG に加え一次胆汁酸を付加投与した群では腫瘍発生の増加がみられなかったのに対し、DCA あるいは LCA の二次胆汁酸を付加投与した群では便流非遮断の無処置ラットの腫瘍発生率に近似した結果を得、大腸癌の発生には胆汁酸特に二次胆汁酸が促進的に作用することを証明した。以上の結果は大腸癌発生増殖に対し便中総胆汁酸排泄量および二次胆汁酸の存在の重要性を示唆する。

ところで、胆嚢は肝より分泌された胆汁を貯蔵濃縮した後、食餌摂取とともに腸管内に大量の胆汁を流出させる作用を有するが、胆嚢結石症に対しては広く胆摘が行われているのが現状である。胆摘が胆汁酸代謝に影響をもつことは推察されるところで、近年、胆摘と大腸癌の因果関係が注目されている。

すなわち、Vernick ら<sup>12)</sup>は 706 例の大腸癌患者の既往歴の検討から、右側大腸癌に胆摘の既往を有するものが多くみられたことを報告した。また、Turunen ら<sup>13)</sup>は、剖検例を用い年齢と性を一致させた大腸癌例および対照例 304 例の対比から、対照例では 304 例中 32 例が胆摘の既往を有していたのに対し大腸癌例では 45 例にみられ、その相対危険度は 1.59 であり、特

に右側結腸癌の相対危険度は 3.00 と高かったと述べている。さらに、Turnbull ら<sup>14)</sup>は、305 例ずつの大腸癌群および対照群の比較から、女性に相対危険度が 2.7 と高く、しかも直腸癌に胆摘の既往が多くみられたとしている。その後、胆摘により大腸癌全体が増加する<sup>37,38)</sup>、結腸癌が増加する<sup>39)</sup>、右側結腸癌のみが増加する<sup>40)~42)</sup>、女性の大腸癌が増加する<sup>43,44)</sup>など幾多の臨床的研究報告がみられる。これに対し、近年 Abrams ら<sup>45)</sup>は、胆嚢摘除後患者 249 例の追跡調査を行い、20 年間で 4 例の大腸癌の発生をみたが、予測発生数の 6.2 人に比較し増加はみられず、また 582 例の大腸癌患者を胆摘の既往歴の有無に分け比較したが差を認めず、胆摘は大腸癌発生に影響を及ぼさないと述べている。同様に Adami ら<sup>46)</sup>、Blanco ら<sup>47)</sup>も胆摘と大腸癌発生との関係について否定的な報告をしている。

実験的には、Werner ら<sup>15)</sup>はマウスの DMH 誘発大腸癌で DMH 投与開始 20 週後の屠殺結果から、大腸癌発生率が対照群の 16%に対し胆摘群では 68%を示し、胆摘により大腸癌が促進されたと報告した。ところが Schattenkerk ら<sup>16)</sup>は同じくマウスの DMH 誘発大腸癌を用い、DMH 投与開始 38 週後に屠殺した結果、単開腹群の大腸腫瘍発生率 47%に対し胆摘群では 55%と両群に差を認めなかったと述べている。このように胆摘後の内的環境の変化が大腸癌の発生に促進的作用を有するか否かについて議論が多く、未だ一定の見解に達していないのが現状である。

ところで、発癌物質 DMH は肝における酵索性  $\alpha$ -水酸化により MAM に代謝された後、胆汁中へ排泄されるか、あるいは血行性に大腸に到達し作用することが示されており、<sup>17)</sup>胆摘の影響を検討する実験系としては必ずしも適切とは言えない。そこで著者は alkyl-nitrosamide に属し、酵素賦活を必要とせず直接的な接触作用による発癌性を有する MNNG を用い、モルモット大腸癌における胆摘の影響を検討した。

その結果、MNNG 誘発大腸腺腫発生率は単開腹群、胆摘群ともに 100%を示したが、癌腫発生率は単開腹群の 76%に対し胆摘群では 56%、癌腫の深達度別発生率でも、単開腹群の m 癌 56%、sm 癌 52%、pm 癌 8%、ss 癌 4%に対し、胆摘群では m 癌 40%、sm 癌 28%を示しただけで pm、ss 癌はみられず、胆摘群でいずれの発生率も低下する傾向を示した ( $p < 0.1$ )。

さらに一匹あたりの腫瘍個数は、腺腫では単開腹群の 26.52 個に対し胆摘群 13.76 個、癌腫では単開腹群 2.96 個に対し胆摘群 1.08 個と、いずれも胆摘群で発生個数が有意に ( $p < 0.05$ ) 減少した。また、癌腫最大径も、直径 0.1 cm 以下の病変が占める比率が単開腹群 29.7%に対し胆摘群 51.9%であり、胆摘群では腫瘍

最大径の小さな癌腫の占める比率が高かった ( $p < 0.05$ )。

以上の結果から MNNG 誘発モルモット大腸癌では胆摘により腫瘍の発生増殖が抑制されることが示唆された。

その要因として胆汁酸代謝の面より検討したが、第 40 週の胆管胆汁中胆汁酸組成では、胆摘群で CA および DCA の比率が上昇し、CDCA の比率が減少し、全体では一次胆汁酸/二次胆汁酸比が 66.7 から 21.7 へと減少する傾向を示した。また糞便中胆汁酸一日排泄量は胆摘群で DCA, LCA さらには総胆汁酸量が減少し、一次胆汁酸/二次胆汁酸比が 0.60 から 1.39 へと上昇する傾向を示した。

胆摘後の胆汁酸代謝の変化について Malagelada ら<sup>48)</sup>は十二指腸ゾンデから 24 時間胆汁を採取し分析した結果、胆摘群では単位時間あたりの総胆汁酸分泌量は正常群に比べ約 1.6 倍に増加し、一次胆汁酸/二次胆汁酸比は 4.16 から 2.38 に減少したとしている。また、Pomare ら<sup>49)</sup>は Taurocholate-24-<sup>14</sup>C および Deoxycholic acid-24<sup>14</sup>C を用いた各種胆汁酸塩のプールサイズの測定から、胆摘群では対照群に比べ CA が 43%に、CDCA が 30%に減少したが DCA のプールサイズには変化はみられず、一次胆汁酸/二次胆汁酸比が減少したと報告した。その理由として Pomare らは胆摘後 1 日あたりの胆汁酸プール回転数が術前の約 2 倍へと増大するために、胆汁酸の腸内細菌への暴露機会が増加し、二次胆汁酸への転換の促進からその組成比が上昇するためと推察している。

実験的には、Bergman ら<sup>50)</sup>はハムスターを用い胆摘後の胆汁酸プールサイズを測定し、普通食あるいは胆石生成食 (lithogenic diet) 下のいずれの場合にも胆汁酸プールサイズが有意に減少することを示した。

一方、肝での胆汁酸合成能は、肝を通過する胆汁酸量により negative feedback が働き胆汁酸プールサイズとは無関係であることが知られている<sup>51)52)</sup>。Pomare ら<sup>49)</sup>は胆摘後には胆汁酸が正常の 2 倍の回転数で循環しているため、肝の胆汁酸合成は抑制されるのに対し、総胆汁酸プールサイズは肝を通過する胆汁酸が正常域に低下するまで減少し続けるため、総胆汁酸プールサイズが正常の 1/2 に減少するものと推察している。

また、小森ら<sup>53)</sup>は担癌個体での胆汁中胆汁酸組成を検討し、ラット、ヒトの種に関係なく担癌個体では一次胆汁酸/二次胆汁酸比が上昇することを指摘し、同時に発癌剤 DMH および MNNG 誘発ラット大腸発癌過程での胆管胆汁分析から、この組成比の変化が発癌剤の種類に関係なく大腸粘膜上皮の異型腺管出現時期と一致してみられたことを報じている。この結果は著

者の発癌率の高い単開腹群で胆管胆汁中一次胆汁酸/二次胆汁酸比が胆摘群より高かったこととよく一致している。

ところで、胆摘後の糞便中胆汁酸組成の変化に関する研究報告は未だみられないが、著者の成績では、胆摘群で糞便中総胆汁酸排泄量および二次胆汁酸 DCA, LCA 排泄量が減少する傾向を示した。したがって、Pomare ら<sup>49)</sup>、Bergman ら<sup>50)</sup>の報告の如く胆摘後胆汁酸プールの回転数が増加し、negative feedback により肝での胆汁酸合成が抑制され、その結果胆汁酸プールサイズが縮小するために、胆摘後には糞便中の胆汁酸排泄量が減少したものと推察される。この便中胆汁酸排泄量ならびに二次胆汁酸排泄量の減少が、大腸癌の発生に対し抑制的内的環境を形成しているものと推察される。

疫学的に胆石症患者の食餌中脂肪含量が高いことが知られており<sup>54)55)</sup>、したがって患者が胆摘後も高脂肪食を取り続ければ大腸発癌が促進される可能性がある。Schmauss ら<sup>56)</sup>は 24,089 例の剖検の検討から、胆摘後に大腸癌発生率が上昇する事実はなく、胆石症と大腸癌に相関関係があったと述べ、胆石症と大腸癌が高脂肪食という同一条件下に促進されている可能性を示唆した。さらに Allende ら<sup>57)</sup>は胆石症患者および胆摘後患者では正常胆嚢者に比べ大腸癌罹患率が有意に高いが、胆石症患者と胆摘後患者との間には差を認めなかったと述べている。

著者は MNNG 誘発モルモット大腸癌において胆摘が大腸発癌に抑制的に作用し、しかもこの結果が胆摘後の便中胆汁酸量ならびに二次胆汁酸排泄量の減少傾向に起因するものと結論した。すなわち胆摘が大腸癌の発生を促進するのではなく、胆摘が行われるような病態、換言すれば胆石症や胆嚢炎を生ずるような内的および外的環境が大腸癌罹患率を上昇する可能性があるものと推察した。

## 結 論

MNNG 誘発モルモット大腸癌において、胆嚢摘除後の大腸腫瘍発生率ならびに発生個数の変化を検索するとともに胆管胆汁および糞便中胆汁酸組成の変化を検討し、以下の結論を得た。

1. 腺腫発生率は単開腹群、胆摘群ともに 100%であったが、癌腫発生率は単開腹群の 76%に対し胆摘群では 56%で、胆摘群で癌腫発生率が低い傾向が認められた。

2. 得られた癌腫の深達度別発生率は、単開腹群の m 癌 56%、sm 癌 52%、pm 癌 8%、ss 癌 4%に対し、胆摘群では m 癌 40%、sm 癌 28%で、pm 癌、ss 癌

はみられず、胆摘群で発生率が低い傾向を認めた。

3. 一匹あたりの腺腫個数は単開腹群の26.52個に対し胆摘群13.76個であり、癌腫個数は前者の2.96個に対し後者1.08個で、うち深達度sm以上の癌腫個数は前者0.92個に対し後者0.36個を示し、胆摘群で発生個数が有意に( $p < 0.05$ )減少した。

4. 腫瘍占居部位および分布状況については両群間に差を認めなかったが、癌腫形態では隆起型が単開腹群63.5%に対し胆摘群37.0%と単開腹群で有意に( $p < 0.025$ )多く、また癌腫径では最大径0.1cm以下が単開腹群29.7%に対し胆摘群51.9%と、胆摘群で最大径の小さな癌腫が有意に( $p < 0.05$ )多かった。

5. 癌腫の組織型は、単開腹群では高分化腺癌71.6%、中分化腺癌18.9%、低分化腺癌2.7%、印環細胞癌5.4%、粘液癌1.4%に対し、胆摘群では高分化腺癌81.5%、中分化腺癌11.1%、低分化腺癌7.4%を示し、両群に差を認めず、またその比率はヒト大腸癌に類似した。

6. 胆管胆汁中胆汁酸組成では、胆摘群でCAおよびDCAが上昇し、CDCAが減少し、さらに一次胆汁酸/二次胆汁酸比が減少する傾向を示した( $p < 0.1$ )。

7. 糞便中胆汁酸組成では、胆摘群で総胆汁酸排泄量が減少し、組成比ではDCAおよびLCAが減少し、一次胆汁酸/二次胆汁酸比が上昇する傾向を示した( $p < 0.1$ )。

以上より、MNNG誘発モルモット大腸癌では胆摘が大腸癌発生増殖に抑制的に作用することが示され、その要因としては胆摘後の便中胆汁酸特にDCA、LCAからなる二次胆汁酸排泄量の減少によるものと結論した。

## 謝 辞

稿を終わるに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師宮崎逸夫教授に衷心から感謝の意を捧げます。また、終始御助言、御支援をいただいた高島茂樹博士に、ならびに御協力をいただいた教職員各位に深甚の謝意を表します。

本論文の要旨は第26回日本消化器病学会大会ならびに第85回日本外科学会総会において発表した。

## 文 献

- 1) Burkitt, D. P.: Epidemiology of cancer of the colon and rectum. *Cancer*, **28**, 3-13 (1971).
- 2) Haenszel, W. & Correa, P.: Cancer of the colon and rectum and adenomatous polyps. A review of epidemiologic findings. *Cancer*, **28**, 14-24 (1971).
- 3) Stewart, H. L.: Geographic pathology of

cancer of the colon and rectum. *Cancer*, **28**, 25-28 (1971).

4) Weisburger, J. H., Reddy, B. S. & Wynder, E. L.: Colon cancer: Its epidemiology and experimental production. *Cancer*, **40**, 2414-2420 (1979).

5) 田島和雄・黒石哲生・富永祐民・山田栄吉: 日本における大腸癌の動向. *医学のあゆみ*, **122**, 398-406 (1982).

6) 渡辺能行・川本一祚・梶原 譲・赤坂裕三・川井啓市・多田正大: 日本の大腸癌に関する疫学的考察. (1)死亡統計からみた基礎的検討. *大腸肛門誌*, **36**, 607-614 (1983).

7) Haenszel, W., Berg, J. W., Segi, M., Kurihara, M. & Locke, F. B.: Large-bowel cancer in Hawaiian Japanese. *J. Natl. Cancer Inst.*, **51**, 1765-1779 (1973).

8) Wynder, E. L.: The epidemiology of large bowel cancer. *Cancer Res.*, **35**, 3388-3394 (1975).

9) Miller, A. B., Howe, G. R., Jain, M., Craib, K. J. P. & Harrison, L.: Food items and food groups as risk factors in a case-control study of diet and colo-rectal cancer. *Int. J. Cancer*, **32**, 155-161 (1983).

10) Reddy, B. S., Watanabe, K. & Weisburger, J. H.: Effect of high-fat diet on colon carcinogenesis in F344 rats treated with 1, 2-dimethylhydrazine, methylazoxymethanol acetate, or methyl-nitrosourea. *Cancer Res.*, **37**, 4156-4159 (1977).

11) Nigro, N. D., Singh, D. V., Campbell, R. L. & Pak, M. S.: Effect of dietary beef fat on intestinal tumor formation by azoxymethane in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **54**, 439-442 (1975).

12) Vernick, L. J., Kuller, L. H., Lohsoonthorn, P., Rychek, R. R. & Redmond, D. K.: Relationship between cholecystectomy and ascending colon cancer. *Cancer*, **45**, 392-395 (1980).

13) Turunen, M. J. & Kivilaakso, E. O.: Increased risk of colorectal cancer after cholecystectomy. *Ann. Surg.*, **194**, 639-641 (1981).

14) Turnbull, P. R. G., Smith, A. H. & Isbister, W. H.: Cholecystectomy and cancer of the large bowel. *Br. J. Surg.*, **68**, 551-553 (1981).

15) Werner, B., de Heer, K. & Mitschke, H.: Cholecystektomie und experimentell erzeugtes Dickdarmcarcinom. *Langenbecks Arch. Chir.*, **343**, 267-274 (1977).

16) Schattenkerk, M. E., Li, A. K. C., Jeppsson,

- B. W., Eggink, W. F., Jamieson, C. G., Ross, J. S. & Malt, R. A.: Cholecystectomy has no influence on frequency of chemically induced colonic cancer in mice. *Br. J. Cancer*, **42**, 791-793 (1980).
- 17) 成沢富雄: ヒトの癌と動物モデル (太田・山本・杉村・菅野編), 169-184 頁 南江堂, 東京, 1979.
- 18) 大腸癌研究会編: 臨床・病理 大腸癌取扱い規約, 第3版, 金原出版, 東京, 1983.
- 19) Grundy, S. M., Ahrens, E. H. & Miettinen, T. A.: Quantitative isolation and gas liquid chromatographic analysis of total faecal bile acids. *J. Lipid Res.*, **6**, 397-410 (1965).
- 20) 滝田 稔・猪川嗣朗・小倉道雄: ラット腸管内容物および糞便中胆汁酸の簡易定量法. 脂質生化学研究, **20**, 249-252 (1978).
- 21) 佐々木寿昭: 日本人大腸癌患者における糞便中胆汁酸およびステロール. 米子医誌, **32**, 115-130 (1981).
- 22) 南部勝司・黒田博之・浪久利彦・大浜宏文・前田 稔: Ursodeoxycholic acid によるコレステロール系胆石の溶解機序と血清胆汁酸の定量分析について. 日消誌, **75**, 1768-1780 (1978).
- 23) 岩淵仁寿: 各種消化器疾患における胆嚢胆汁の胆汁酸の組成. 日消誌, **75**, 869-881 (1978).
- 24) Cummings, J. H., Wiggins, H. S., Jenkins, D. J. A., Houston, H., Jivraj, T., Drasar, B. S. & Hill, M. J.: Influence of diets high and low in animal fat on bowel habit, gastrointestinal transit time, fecal microflora, bile acid, and fat excretion. *J. Clin. Invest.*, **61**, 953-963 (1978).
- 25) Hill, M. J. & Aries, V. C.: Faecal steroid composition and relationship to cancer of the large bowel. *J. Path.*, **104**, 129-139 (1971).
- 26) Hill, M. J., Crowther, J. S., Drasar, B. S., Hawksworth, G., Aries, V. C. & Williams, R. E. D.: Bacteria and aetiology of cancer of large bowel. *Lancet*, **1**, 95-100 (1971).
- 27) Reddy, B. S. & Wynder, E. L.: Large-bowel carcinogenesis: Fecal constituents of populations with diverse incidence rates of colon cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, **50**, 1437-1442 (1973).
- 28) Reddy, B. S. & Wynder, E. L.: Metabolic epidemiology of colon cancer. Fecal bile acid and neutral sterols in colon cancer patients and patients with adenomatous polyps. *Cancer*, **39**, 2533-2539 (1977).
- 29) Sauer, V. H. D., de Heer, K. & Mitschke, H.: Orale Chenodesoxycholsäuretherapie und kolorektales Karzinom-eine experimentelle Studie. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, **17**, 236-243 (1979).
- 30) Cohen, B. I., Raicht, R. F., Deschner, E. E., Takahashi, M., Sarwal, A. N. & Fazzini, E.: Effect of cholic acid feeding on N-methyl-N-nitrosourea-induced colon tumors and cell kinetics in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 573-578 (1980).
- 31) Narisawa, T., Magadia, N. E., Weisburger, J. H. & Wynder, E. L.: Promoting effect of bile acids on colon carcinogenesis after intrarectal instillation of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **53**, 1093-1097 (1974).
- 32) Reddy, B. S.: Role of bile metabolites in colon carcinogenesis. *Cancer*, **36**, 2401-2406 (1975).
- 33) Reddy, B. S., Narisawa, T., Weisburger, J. H. & Wynder, E. L.: Brief communication: Promoting effect of Sodium deoxycholate on colon adenocarcinomas in germ free rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **56**, 441-442 (1976).
- 34) Reddy, B. S., Watanabe, K., Weisburger, J. H. & Wynder, E. L.: Promoting effect of bile acids in colon carcinogenesis in germ-free and conventional F344 rats. *Cancer Res.*, **37**, 3238-3242 (1977).
- 35) Reddy, B. S. & Watanabe, K.: Effect of cholesterol metabolites and promoting effect of lithocholic acid in colon carcinogenesis in germ-free and conventional F344 rats. *Cancer Res.*, **39**, 1521-1524 (1979).
- 36) 片山外一: 大腸癌発生増殖に及ぼす胆汁酸の影響に関する実験的研究. 十全医会誌, **91**, 452-472 (1982).
- 37) 水間公一・戸塚守夫・早坂 晃: 大腸癌と胆嚢摘除との関連に関する検討. 大腸肛門誌, **36**, 223-226 (1983).
- 38) Linos, D. A., Beard, C. M., O'Fallon, W. M., Dockerty, M. B., Beart, R. W. & Kurland, L. T.: Cholecystectomy and carcinoma of the colon. *Lancet*, **2**, 379-381 (1981).
- 39) Weiss, N. S., Daling, J. R. & Chow, W. H.: Cholecystectomy and the incidence of cancer of the large bowel. *Cancer*, **49**, 1713-1715 (1982).
- 40) Alley, P. G. & Lee, S. P.: The increased risk of proximal colonic cancer after cholecystectomy. *Dis. Colon Rect.*, **26**, 522-524 (1983).

- 41) Narisawa, T., Sano, M., Sato, M., Takahashi, T. & Arakawa, H.: Relationship between cholecystectomy and colonic cancer in low-risk Japanese population. *Dis. Colon Rect.*, **26**, 512-515 (1983).
- 42) Fixa, B., Komárková, O. & Pospíšilová, J.: Cholecystectomy and right-sided colon cancer. *Neoplasma*, **31**, 223-224 (1984).
- 43) Sonoda, T., Youngman, D. J. & Reynolds, R. D.: Cholecystectomy and carcinoma of the colon. *Milit. Med.*, **148**, 721-722 (1983).
- 44) Kwai, A. H.: Cholecystectomy and large-bowel cancer. *Mt. Sainai J. Med.*, **50**, 359-363 (1983).
- 45) Abrams, J. S., Anton, J. R. & Dreyfuss, D. C.: The absence of a relationship between cholecystectomy and the subsequent occurrence of cancer of the proximal colon. *Dis. Colon Rect.*, **26**, 141-144 (1983).
- 46) Adami, H.-O., Meirik, O., Gustavsson, S., Nyrén, O. & Krusemo, U.-B.: Colorectal cancer after cholecystectomy: Absence of risk increase within 11-14 years. *Gastroenterology*, **85**, 859-865 (1983).
- 47) Blanco, D., Ross, R. K., Paganini-Hill, H. & Henderson, B. E.: Cholecystectomy and colonic cancer. *Dis. Colon Rect.*, **27**, 290-292 (1984).
- 48) Malagelada, J. R., Go, V. L. W., Summerskill, W. H. J. & Gamble, W. S.: Bile acid secretion and biliary bile acid composition altered by cholecystectomy. *Am. J. Dig. Dis.*, **18**, 455-459 (1973).
- 49) Pomare, E. W. & Heaton, K. W.: The effect of cholecystectomy on bile salt metabolism. *Gut*, **14**, 753-762 (1973).
- 50) Bergman, F. & Linden, W.: Bile acid pool size in hamsters during gallstone formation and after cholecystectomy. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, **13**, 37-42 (1974).
- 51) Mosbach, E. M.: Hepatic synthesis of bile acids. *Arch. Intern. Med.*, **130**, 478-487 (1972).
- 52) Low-Beer, T. S., Pomare, E. W. & Morris, J.: Control of bile salt synthesis. *Nature [New Biol.]*, **238**, 215-216 (1972).
- 53) 小森和俊・高島茂樹・宮崎逸夫: 大腸癌発生に伴う胆汁中胆汁酸組成の変化に関する研究. 日外会誌, **81**, 臨増, 323 (1980).
- 54) Valdivieso, V., Palma, R., Nervi, F., Covarrubias, C. & Severin, C.: Secretion of biliary lipids in young Chilean women with cholesterol gallstones. *Gut*, **20**, 997-1000 (1979).
- 55) Lowenfels, A. B.: Gallstones and the risk of cancer. *Gut*, **21**, 1090-1092 (1980).
- 56) Schmauss, V. A. K. & Ehrhardt, U.: Cholelithiasis-Cholezystektomie und Kolonkarzinom. *Zbl. Chirurgie*, **108**, 449-456 (1983).
- 57) Allende, H. D., Ona, F. V. & Davis, H. T.: Gallbladder disease: risk factor for colorectal carcinoma? *J. Clin. Gastroenterol.*, **6**, 51-55 (1984).

**The Effect of Cholecystectomy on the Induction of Colorectal Cancers in Guinea Pigs by N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine** Takeo Kosaka, Department of Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - *J. Juzen Med. Soc.*, **94**, 479-494 (1985)

**Key words:** colorectal cancer, guinea pig, cholecystectomy, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, bile acid

#### Abstract

The influence of previous cholecystectomy on the N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)-induced colorectal carcinogenesis was examined in female Hartley-strain guinea pigs. All animals were given 2 ml of 0.025% MNNG solution (0.5 mg MNNG) by intrarectal instillation twice weekly for 15 week sacrificed 40 weeks after the first instillation with MNNG. After fixation in 10% formalin solution the distal large bowel was totally embedded in paraffin and serial sections were cut every 100  $\mu$ m longitudinally from the bowel. Microscopic evaluation was performed in all section after staining them with hematoxylin and eosin. For the purpose of examining changes in bile acid metabolism after cholecystectomy, biliary and fecal bile acids

were analyzed by gas chromatography. The incidence of guinea pigs bearing carcinomas was slightly decreased in the cholecystectomy group, being 56% compared with 76% in the sham group. As for the depth of the invasion, the incidence was also decreased in the cholecystectomy group: in the submucosal layer, the incidence was 28% in the cholecystectomy group compared with 52% in the sham group; in the proper muscle layer, 0% vs 8%, respectively; in the subserosal layer, 0% vs 4%, respectively. The incidence of colonic carcinomas per animal was decreased in the cholecystectomy group, the mean value being 1.08/animal compared with 2.96/animal in the sham group ( $P<0.05$ ). The incidence of carcinomas invading into the layers deeper than the mucosal layer was also decreased in the cholecystectomy group, the mean value being 0.36/animal compared with 0.92/animal in the sham group ( $P<0.05$ ). The incidence of carcinomas with sizes of less than 0.1 cm was increased in the cholecystectomy group, being 51.9% in the cholecystectomy group compared with 29.7% in the sham group ( $P<0.05$ ). Biliary bile acid composition of the cholecystectomy group showed increased cholic and deoxycholic acid and decreased chenodeoxycholic acid. And the ratio of primary to secondary bile acid was decreased in the cholecystectomy group, the mean value being 21.7 compared with 66.7 in the sham group ( $P<0.1$ ). In the fecal bile acid excretion the cholecystectomy group reduced total bile acid, and deoxycholic and lithocholic acid. And the ratio of primary to secondary bile acids was increased in the cholecystectomy group, the mean value being 1.39 compared with 0.60 in the sham group ( $P<0.1$ ). These findings suggest that cholecystectomy suppresses the MNNG-induced colorectal carcinogenesis in guinea pigs and that it is due to the decrease of total and secondary bile acid excretion into the feces.